

用石墨炉原子吸收光谱法测定血清镉

王先良 王小利^a 张金良

(中国环境科学研究院环境污染与健康研究室 北京市朝阳区北苑大羊坊 8 号 100012)

^a(北京工业大学生命科学学院 北京市 100022)

摘要 建立一种血清镉的石墨炉原子吸收光谱测定法。将血清和 0.44 mol/L 的优级纯 HNO₃ 按 1:9 充分稀释后, 15000 r/min 高速离心 10 min, 取上清 20 μL, 直接在 PE-AA 800 型原子吸收分光光度计上测定。研究发现最佳灰化温度为 700, 最佳原子化温度为 1700, 最佳净化温度为 2000 和基底改进剂为 50 μg 磷酸二氢铵 + 3 μg 硝酸镁, 平均回收率可达到 102.0%; 相对标准偏差 (RSD) 小于 8.0%; 特征浓度为 1.70992 pg/0.0044A, 检出限为 0.9327 pg。本法为一种可信度较高, 操作性较强的血清镉的实用测定方法。

关键词 原子吸收光谱法, 血清, 镉

中图分类号: O 657.31

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2008)05-0854-04

1 引言

镉是一种常见的重金属毒物, 主要损伤人体的肾脏系统功能^[1,2]和生殖功能^[3]。我国当前存在多个镉污染区, 对暴露区常住居民健康产生了重要影响。对暴露人群的血中镉的暴露水平进行评估是开展生物监测的主要手段, 目前公开报道的有原子吸收(或发射)光谱法^[4-6]、电感耦合等离子体发射光谱法^[7]等。其中石墨炉原子吸收光谱法需样量少、灵敏度高, 成为卫生部颁发的标准分析方法^[8](WS/T 174-1999), 但该法分析时基体干扰严重, 结果重复较困难。自 2003 年以来, 我们利用 PE 公司的 AA 800 型原子吸收分光光度计(美国 Perkin-Elmer 公司), 对检测方法进行改进以提高血清的检测效果, 结果较好。

2 实验部分

2.1 原理

血样低速离心后取血清, 经硝酸稀释后直接进样, 在加入基底改进剂后, 经横向加热石墨炉原子化器 (THGA) 系统原子化和纵向 Zeeman 效应校正背景吸收, 采用峰面积测量方式, 由机器依据校准曲线直接给出测定样中 Cd 含量, 再推算出血清中 Cd 浓度。

2.2 仪器及试剂

2.2.1 仪器

Perkin-Elmer 公司的 AA-800 石墨炉原子吸收分光光度计具有 THGA 原子化器系统, 纵向

科技部国家公共基础平台建设项目 (2005DKA 53802)

联系人, 电话: (010) 84916422; Email: xlwang@craes.org.cn

作者简介: 王先良 (1978—), 男, 安徽省岳西县人, 博士, 助研, 研究典型环境污染对人体健康的危害。

收稿日期: 2008-03-24; 接受日期: 2008-04-14



Zeeman 效应校正装置和自动进样器;热解涂层石墨管(Perkin-Elmer 原厂生产),Cd 空心阴极灯(Perkin-Elmer 原配)。

2.2.2 试剂

硝酸:优级纯,上海振兴化工二厂,980317;硝酸镁 $Mg(NO_3)_2$:分析纯,天津市耀华化工厂,990902;磷酸二氢铵 $NH_4H_2PO_3$:AR,上海试剂二厂,990108;Cd 标准溶液(GBW 080119):国家标准物质研究中心提供;标准物质(GBW 09132, GBW 09134):中国预防医学科学院环境卫生监测所提供;实验用水均为高纯水(电阻率 $> 18M \Omega \cdot cm$)。实验中所有使用器材均用 $2.0mol/L HNO_3$ 浸泡48h以上。再用高纯水冲洗两次,自然晾干备用。

2.3 样品采集与前处理

2.3.1 采集

用棉签依次粘取75%的酒精, $0.44mol/L$ 的 HNO_3 擦拭皮肤后,用真空管采取静脉血约3mL,净置15min后, $3000r/min$ 离心10min,取上清于聚乙烯具塞离心管中。冰包带回,-20℃保存。

2.3.2 前处理

将冷冻血清取出,常温下放置直至全部溶解。摇匀后取 $200\mu L$ 的血清样品于2.5mL聚乙烯离心管中,再加入 $1800\mu L$ 的 $0.44mol/L HNO_3$ (1:9稀释),混匀器混匀5min,于 $15000r/min$ 高速离心10min,取上清直接进样。

2.4 仪器工作条件

波长:228.8nm;灯电流:7mA;光谱通带: $0.7nm$;进样量: $20\mu L$;基底改进剂: $50\mu g NH_4H_2PO_3 + 3\mu g Mg(NO_3)_2$;保护气:Ar,原子化时停气;Zeeman 效应背景校正;两步干燥,斜坡升温。石墨炉升温程序见表1。

表1 测定血镉时石墨炉的升温程序

项目	干燥1	干燥2	灰化	原子化	净化
温度(℃)	110	130	700	1700	2000
斜坡时间(s)	1	15	10	0	0
持续时间(s)	30	30	20	5	3
Ar 流速(mL/min)	250	250	250	0	250

2.5 校准曲线

以高纯水为试剂空白,将预先配好的 $4\mu g/L$ 的标准应用液和基底改进剂加入样品杯,依次放进样品盘中,经仪器自动依次稀释成标准系列0,1,2,3, $4\mu g/L$,在上述仪器条件下测定,自动绘制校准曲线。若不理想须重做校准曲线,重新开机也必须重做校准曲线。

2.6 样品测定

取处理好的上清液于样品杯中,依据编号置于样品盘中;另外以全程序空白为样品空白(共5个),相同条件下测定。

2.7 计算结果

最终结果为:

$$C = m \times 10$$

式中:C——样品最终浓度($\mu g/L$);m——样品测定值减去样品空白值。

3 结果与讨论

3.1 工作条件的选择

参照PE 公司推荐的方法, 确定样品干燥升温程序。对3 个不同浓度($1\mu\text{g/L}$, $5\mu\text{g/L}$, $25\mu\text{g/L}$) 的标准样品多次改变灰化温度、原子化温度和净化温度进行测定, 发现当灰化温度为 700°C , 原子化温度为 1700°C , 净化温度为 2000°C 时吸光度最大且又能净化完全, 确定上述为最佳工作条件。

3.2 校准曲线

本方法中仪器由于具有THGA 原子化器系统, 纵向Zeeman 效应校正装置, 自动进样器等装置, 因此校准曲线具有较好的线性(图1)。

3.3 方法的准确度

3.3.1 加标回收试验

取 10 份样品测定时各加入 $1\mu\text{g/L}$ 的镉标准溶液 $2\mu\text{L}$, 回收率在 92.50%—111.50% 之间, 平均回收率为 102.00%, 见表 2。

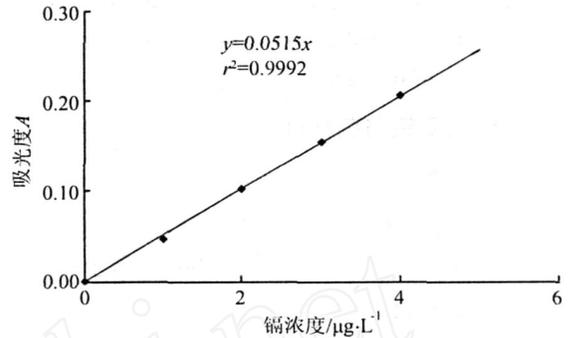


图 1 镉测定校准曲线

表 2 加标回收率试验

样品编号	本底值(10^{-12}g)	加标量(10^{-12}g)	加标测定值(10^{-12}g)	回收率(%)
1	1.14	2.00	3.20	103.00
2	4.69	2.00	6.65	98.00
3	4.93	2.00	6.78	92.50
4	5.07	2.00	6.95	94.00
5	5.34	2.00	7.38	102.00
6	5.76	2.00	7.77	100.50
7	6.19	2.00	8.21	101.00
8	6.39	2.00	8.62	111.50
9	6.88	2.00	9.07	109.50
10	8.92	2.00	11.08	108.00

3.3.2 Cd 标样测定

将国家标准物质中心提供的标准物质稀释至 $1\mu\text{g/L}$, 经过 50 次测量, 结果为 $0.97 \pm 0.38\mu\text{g/L}$, 经检验与参考值差异无统计学意义 ($P = 0.725$)。

3.4 方法的精密度

随机抽取 5 个样品, 各测量 4 次。发现 RSD 依次为 2.10%; 4.16%; 4.78%; 6.02% 和 8.00%。

3.5 特征浓度与检出限

本方法在波长为 228.8nm 处的特征浓度为 $1.70992\text{pg}/0.0044\text{A}$, 当进样量为 $20\mu\text{L}$ 时, 检出限为 0.9327pg 。

3.6 预处理对结果的影响

血清加酸后要离心, 因为血清中的有机物浓度可能较多, 会影响测定结果; 另外血清预处理最好一次完成, 以免造成差异。处理后放置短期内 (15 天) 对测定结果影响不明显。

3.7 基底改进剂的选择

本次实验中先后尝试过 3 种基底改进剂: $50\mu\text{g}$ 磷酸二氢铵 + $3\mu\text{g}$ 硝酸镁, $15\mu\text{g}$ 硝酸镁和 $5\mu\text{g}$ 钼

+ 3 μg 硝酸镁,结果显示50 μg 磷酸二氢铵+ 3 μg 硝酸镁具有较好的改进效果。

3.8 实际血样检测

曾有研究表明电焊工体内血Cd水平较高,我们运用本方法对300余例电焊工和操作工血清Cd进行了测量^[9],剔除部分人员后,发现电焊工的血清Cd为3.54 $\mu\text{g}/\text{L}$ (四分位数分别为1.33、2.33和5.32);操作工的血清Cd为0.83 $\mu\text{g}/\text{L}$ (四分位数分别为0.10、0.18和0.62),均数检验差异有统计学意义($P=0.000$)。以5 $\mu\text{g}/\text{L}$ 为我国正常人群血镉参考值,发现电焊工组的血清Cd异常率为25.61%(21/82),操作工组的血清Cd异常率为0%(0/83),两组差异有统计学意义,表明本法不失为一种可信度较高,操作性较强的实用方法。

由于镉的原子吸收分光测定方法的特征浓度较低,导致血镉样品检测(特别是较低浓度)的要求较高。减少中间造作,尽量降低外来污染是痕量分析的重要保证之一。卫生部推荐方法中采用硝酸对全血进行稀释离心后直接进样,也能获得较好的检测效果;但是由于血细胞被打散后,血红蛋白等大量有机物均包含在直接进样中,产生了比较严重的基底干扰。本方法采取血清为检测对象,不加肝素抗凝。将血清经过稀硝酸稀释后,高速离心,将有机物除去后,直接进样,简化了前处理操作和降低了外来污染和基底干扰;另外采用比较先进的仪器(横向加热、Zeeman效应校正、自动加样等),使测定结果的准确度和精确度保持了一个较高的水平,操作简便易行。

参考文献

- [1] Prozialeck WC, Vaidya VS, Liu J *et al*. Kidney Injury Molecule-1 is an Early Biomarker of Cadmium Nephrotoxicity[J]. *Kidney Int*, 2007, 72(8): 985—993
- [2] 王任群,赵肃,邱玉鹏等. 镉污染区居民肾功能损害的研究[J]. *环境与健康杂志*, 2006, 23(3): 202—204
- [3] Huff J, Lunn RM, Waalkes MP *et al*. Cadmium-Induced Cancers in Animals and in Humans[J]. *Int J. Occup. Environ. Health*, 2007, 13(2): 202—212
- [4] 库进良,吉守祥,马存花等. 金铂脑血康胶囊中微量、宏量元素的测定分析[J]. *光谱学与光谱分析*, 2006, 26(11): 2154—2156
- [5] 郭萍,陈建安,陈惠娟等. 末梢血中铅、镉的石墨炉原子吸收光谱测定方法[J]. *预防医学论坛*, 2007, 13(12): 1104—1106
- [6] 孙静萍,王峰清,孙书芹等. 血镉测定方法及正常人血镉水平[J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 1991, 9(5): 48—50
- [7] 刘伟兵. 血、尿中金属毒物的电感耦合等离子发射光谱检测方法[J]. *刑事技术*, 2005, 30(3): 13—16
- [8] 中国卫生行业标准. 血中铅、镉的石墨炉原子吸收光谱测定方法[S]. WS/T 174-1999. 北京: 中国标准出版社, 2000. 1—5
- [9] Wang X L, Yang Y J. The Effect of Occupational Exposure to Metals on the Nervous System Function in Welders[J]. *J Occup Health*, 2006, 48(2): 100—106

Determination of Serum Cadmium by Graphite AAS

WANG Xian-Liang WANG Xiao-Lia^a ZHANG Jing-Liang

(Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, P. R. China)

^a(School of Life Science and Engineering, Beijing Technical University, Beijing 100022, P. R. China)

Abstract Cadmium in serum was diluted with HNO_3 and centrifuged 10 minutes by 15000r/m first and determined by graphite atomic absorption spectroscopy (AAS). The optimal temperatures for cineration, atomization and clearance are 700, 1700 and 2000 with the matrix modifier of a unit of 50 μg $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_3$ and 3 μg $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, respectively. The average recovery is 102.00% and the coefficient of variation is less than 8.0%; the sensitivity is 1.70992pg/0.0044A and the detection limit is 0.9327pg. The method is a practicable and credible for detection serum Cd with good performance.

Key words AAS, Serum, Cadmium.